

# 大田大豆有效根瘤固氮活力简易估测方法\*

贾 凤 菊

(黑龙江省农业科学院土肥研究所, 哈尔滨)

测定根瘤固氮活性的方法较多,除直接以大豆产量评定外,还用凯氏定氮法和 $^{15}\text{N}$ 同位素分析法等。尤其是 Burris 等发现的乙炔还原法测定固氮酶活性,对生物固氮研究工作起了推动作用。如乙炔还原分析法的剥瘤法、带根法、钟罩原位测定法,都可在大田中直接应用。但是,由于需要精密仪器和严格的操作技术及分析纯的药品,致使在大田中应用仍有许多不便之处,在基层单位想测定大田中大豆根瘤固氮能力仍然非常困难。仅以单株瘤数和瘤鲜重来比较固氮能力,又常常不能反应客观实际。因此,寻求一种简便易行的根瘤固氮活性测定方法仍是当前大豆生产中急待解决的问题。

本法是经过三年,对 14 个大豆品种的 1300 株大豆,按《豆科根瘤菌固氮效率大田调查法》<sup>[1-3]</sup>,分成优、中、劣三级,由 22000 多个有效根瘤组成的 465 份根瘤样本,采用 102 G 型气相色谱仪进行剥瘤分级测定结果制定的。测定结果是:单个有效根瘤的固氮酶活性与其根瘤鲜重(或根瘤直径、或瘤龄)呈正相关。优、中、

劣三级植株上同样直径根瘤的固氮酶活性差异不显著。故以单个根瘤的鲜重或单株不同直径根瘤中,有效根瘤数进行每株有效瘤在一天(24 小时计算)内的固氮酶活性估测,再换算出每亩根瘤在旺盛固氮季节中的固氮酶活性(简称季固氮活性)具体估测方法和步骤如下。

第一步是测定不同直径根瘤的有效固氮活性。于晴天 10—14 点采集根瘤,洗净、吸干瘤表水份,过筛分成五级(表 2),然后由五个级别中分别选出有效根瘤一克,并数出每克根瘤的实际数目,放入疫苗瓶中,加反耳塞,用注射器抽出 1ml 空气,即刻注入 1ml 乙炔气,置 28℃ 恒温下培养 1 小时,抽出混合气,放入预先准备好的真空青霉素瓶中,进行气相色谱测定。按峰高比<sup>[4]</sup>计算出不同直径单个标准瘤的日固氮活性 [t] (单位:  $\text{N}_2\text{mg}/\text{个}/\text{天}$ ) 和瘤的鲜重 (mg/个)。现将三年测定的大豆根瘤日固氮活性平均数列如表 1。

\* 此文承蒙本所王金平副研究员指导,并经南京农学院樊庆笙教授和北农大陈文新教授审阅并提出宝贵意见,特此致谢。

表 1 不同直径单个标准根瘤日固氮活性

根瘤直径 (mm)	单瘤鲜重 (mg/个)	固氮活性 (N <sub>2</sub> mg/个/天)
>5	75.2	0.1767
5-4.1	42.5	0.1000
4-3.1	21.5	0.0500
3-2.1	7.5	0.0167
<2	2.2	0.0033

其它豆科根瘤植物也可参照此法制出标准曲线,进行估测。

第二步是选择估测方法,具体方法包括两种:

1. 单瘤鲜重估测法:也叫标准曲线法(简称重量法)。即以表 1 中所列瘤鲜重为纵座标,固氮活性为横座标,绘制标准曲线。只要测出单株有效根瘤总重(mg)和数目,求出单个根瘤鲜重,便可查曲线而得单瘤固氮活性。再将

单瘤固氮活性乘上单株有效瘤数,即为单株根瘤的日固氮活性。单株根瘤的固氮活性再乘上根瘤旺盛固氮的天数(大豆生育期为 90 天以下的,按 40 天,生育期 100—115 天的按 50 天;生育期为 120—130 天的按 60 天),便得单株根瘤季固氮活性。

2. 单株有效根瘤分级数数法(简称数量法)。将根瘤进行分级,分别数出各级有效根瘤的数目,乘上本级标准根瘤的固氮活性,然后将各级根瘤固氮活性相加即得单株有效根瘤的日固氮活性。再乘以前述的根瘤旺盛固氮的天数即得单株有效瘤的季固氮活性。再乘上每亩大豆株数,求出亩有效根瘤的季固氮活性。

两法结果近似,但数量法较曲线法更为简便,适于田间速测。本文主要介绍数量估测方法,其基本调查表格示如表 2。

第三步是根瘤的采集、分级及数数。

表 2 基本调查表格

调查项目 试验处理	每株总瘤数 (T <sub>n</sub> )	有效根瘤数 [T]										有效根瘤百分率 (%)	每株日固氮活性 n = N <sub>&gt;5</sub> + ... + N <sub>&lt;2</sub>
		>5mm		5-4.01mm		4-3.01mm		3-2.01mm		<2mm			
		瘤数	活性	瘤数	活性	瘤数	活性	瘤数	活性	瘤数	活性		
		T <sub>&gt;5</sub>	t <sub>&gt;5</sub>	T <sub>5-4.01</sub>	t <sub>5-4.01</sub>	T <sub>4-3.01</sub>	t <sub>4-3.01</sub>	T <sub>3-2.01</sub>	t <sub>3-2.01</sub>	T <sub>&lt;2</sub>	t <sub>&lt;2</sub>		

在大豆结瘤最多,固氮旺盛时期(东北以结荚至鼓粒期),选择有代表性的大豆 10 株,距根茎 10cm 远,从垅两侧往深处垂直挖 20cm,取土样,放一塑料布上,取回所有根瘤,冲洗干净,用吸水纸吸干,即可数总瘤数 [T<sub>n</sub>],然后过筛(可用土壤筛或土制筛,即用烧红的铁丝在纸盒底部烙出不同直径筛孔的筛子),将根瘤分成 >5mm、5-4.01mm、4-3.01mm、3-2.01mm、<2mm 等五级,再切开根瘤,观察剖面颜色,红色的为有效根瘤,并计数 [T];绿色和烂瘤是无效根瘤。

第四步是有效根瘤固氮活性的估测计算

1. 计算有效根瘤占总根瘤的百分数,计算公式  $T\% = \frac{T}{T_n} \times 100$ 。式中 T 为有效根瘤数;

T<sub>n</sub> 为总瘤数。

2. 计算每亩有效根瘤的季固氮活性,①求各级瘤的有效根瘤固氮活性 [N<sub>n</sub>],  $N_n = T_n \cdot t_n$ , 式中 t<sub>n</sub> 为各级瘤中单个有效瘤固氮活性。②求单株有效根瘤的日固氮活性 [n],  $n = N_{>5} + N_{4-3.01} + N_{3-2.01} + N_{<2}$  (mg/株/天)。③求每亩根瘤的季固氮活性 [N<sub>2</sub>],  $N_2 = \frac{n \cdot x}{10^6} \cdot y$ , 式中 n 为单株根瘤的季固氮量, x 为每亩大豆株数, y 为根瘤全季的旺盛固氮天数, 10<sup>6</sup> 为将 mg 变化为 kg 时的转换倍数。

此估测方法,经 1979—1981 三年时间在 25 个县级农科所应用结果看出,对研究各种农业措施对根瘤固氮活性的影响是适用的。此估测结果的规律性显著,可靠性大,现已作为标准

表3 耕作方法对根瘤着生及固氮活性的作用

项目 处理 时间地点		每亩株数	每株瘤数	各瘤级有效瘤数					无效瘤数	有效瘤率 (%)	亩固氮量	
				>5 mm	5—4.1 mm	4—3.1 mm	3—2.1 mm	2—1 mm			Kg/亩	增加%
新华大队 (1979年)	一般耕法	2万	36	0	3	5	8	20	5	87.2	0.9	—
	深松深耕	2万	73	0	5	7	25	36	5	93.3	1.66	84.4
	高产田	2万	205	0	5	10	80	110	10	90.3	3.24	260.6
依安县 (1980年)	不深松	1.6万	73	0	9	15	18	31	28	61.6	2.46	—
	深松	1.6万	102	0	10	18	34	34	22	78.4	3.10	26.0

方法在黑龙江省应用。

从表3看出深松土不仅促进根瘤发育,使大根瘤数目及总根瘤数目增加,而且固氮活性也有显著提高。

本估测方法除所得结果可靠之外,而且简单易行,经济适用,测定时不受时间、季节等条件的影响。但估测结果不能作为根瘤菌固氮酶活的绝对指标。

### 参 考 文 献

- [1] 胡济生等: 中国农业科学, 1964年第3期, 44页。
- [2] 谢寿长: 中国农业科学, 1964年第8期, 52页。
- [3] 山东省土壤肥料研究所微生物室编: 《根瘤菌肥》, P.32—34, 农业出版社, 1978。
- [4] 上海植物生理研究所固氮研究室: 植物学报 16(4): 1, 1974。
- [5] 贾凤菊: 土壤肥料, 1982年第6期, 31页。